

**STUDI PEMBUATAN Zn-FITAT DAN DEGRADASINYA
DI DALAM CAIRAN RUMEN**
[*Study on Zn-Fitit Processing and Its Degradation In Rumen Fluid*]

I. Hernaman¹ , T. Toharmat², W. Manalu³, dan P. I. Pudjiono⁴

¹*Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Bandung*

²*Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor*

³*Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor*

⁴*Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta*

Received March 03, 2007; Accepted July 24, 2007

ABSTRAK

Asam fitat banyak terdapat dalam biji-bijian. Senyawa ini dapat mengikat kuat Zn. Penelitian ini mempelajari pembuatan Zn-fitat dan degradasinya di dalam cairan rumen. Asam fitat diekstraksi dari pollard menggunakan larutan asam cuka 1% dengan rasio 1:3. Ekstrak asam fitat direaksikan dengan larutan ZnCl₂ pada perbandingan molaritas 1:2. Karakteristik Zn-fitat ditentukan dengan mengukur bahan kering dan kadar mineral endapan. Produk Zn-fitat diinkubasikan dan diukur degradasinya dalam sistem rumen *in vitro*. Hasil menunjukkan bahwa pembentukan kompleks Zn-fitat dari ekstrak pollard dengan ZnCl₂ menghasilkan endapan sebanyak 10,7 mg/L dengan kadar Zn yang terikat sebesar 29,87% serta turut mengendapkan Mg dan Na. Kompleks Zn-fitat didegradasi lambat dalam cairan rumen dan percepatan degradasi dimulai pada jam ke-8.

Kata Kunci : asam fitat, Zn-fitat, degradasi cairan rumen

ABSTRACT

Phytic acid is high in cereals grain. This compound may have high affinity to bound Zn tightly. The present experiment was aimed to study the process of Zn-phytate and its degradation in rumen fluid. Phytic acid was extracted from pollard using acetic acids solution at concentration 1%. Solution of acetic acid at concentration of 1% was used to produce phytic acid from pollard at ratio of 1:3. Phytic acid solution was mixed with ZnCl₂ solution at a molarity ratio of 1:2. Zn-phytate characteristics were identified by dry matter and minerals content in the sediment. In vitro studies were conducted to evaluate the degradation of Zn-phytate. The results indicated that the formation of Zn-phytate in the pollard extract mixed with ZnCl₂ solution at molarities ratio of 1:2 was 10,7 mg/L. Total Zn bound the phytic acid was 29,87%. Magnesium and Na were also precipitated in the sediment. Zn-phytate complex was degraded slowly in rumen fluid. High rate of Zn-phytate degradation was likely commenced after 8 h of incubation.

Keywords : phytic acid, Zn-phytate, degradation, rumen fluid

PENDAHULUAN

Seng sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme tubuh. Mineral ini terdapat pada semua jaringan tubuh dan esensial bagi ternak. Peran biologis Zn di antaranya sebagai komponen metaloenzim seperti polimerase DNA, peptidase karboksil A dan B dan fosfatase alkalin. Enzim-enzim tersebut berperan dalam proliferasi DNA, sintesis protein, proses

pencernaan protein dan absorpsi asam amino, serta metabolisme energi (Larvor, 1983). Seng terbukti dapat memacu pertumbuhan mikroba (Putra, 1999), meningkatkan penampilan ternak (Hatfield, et al. 1995), dan sistem imunitas (Hernaman, 2003). Penyerapan Zn dari ransum sangat rendah. Ternak ruminansia dewasa hanya mampu menyerap Zn ransum sebesar 20-40% (Georgievskii, et al. 1982).

Barker dan Zublena (1999) melaporkan bahwa feses sapi, domba, dan kambing masih mengandung Zn cukup tinggi, yaitu berturut-turut 21, 29, dan 32 mg/kg. Dengan demikian, ternak ruminansia berpotensi mengalami defisiensi terhadap mineral tersebut. Suplementasi Zn dalam berbagai bentuk penyajian telah banyak dilakukan untuk memenuhi kebutuhan ternak dan menghasilkan respons yang berbeda-beda. Pemanfaatan Zn-anorganik menghambat aktivitas enzim proteolitik dan mengurangi proteolisis protein pakan di dalam rumen (Karr, et al. 1991). Selain itu, Zn-anorganik lebih liar di dalam rumen dan kemungkinan akan membentuk kompleks-kompleks tak larut sehingga kurang bermanfaat bagi ternak (Church, 1984). Ketersediaan Zn-organik (Zn-lisinat dan Zn-metionin) lebih tinggi dibandingkan Zn-anorganik (ZnSO_4 dan ZnO) serta dimetabolisme secara berbeda pada beberapa jaringan (Rojas, et al. 1995).

Biji-bijian dalam konsentrat yang merupakan komponen pakan ruminansia banyak mengandung asam fitat. Asam fitat ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ atau IP6) adalah suatu cincin *myo-inositol* yang mengikat penuh fosfat (Turk, 1999). Asam fitat dengan kadar cukup tinggi banyak ditemukan pada hasil samping atau limbah pengolahan biji-bijian. Sumiati (2006) melaporkan bahwa dedak padi mengandung asam fitat 6,9%. Kandungan asam fitat pada *wheat bran* adalah 4,46-5,56%, barley 1,08-1,16%, jagung 0,76%, oats 0,8-1,02% (Cosgrove, 1980). Ravindran, et al. (1995) melaporkan kandungan asam fitat pada kacang kedelai, *repeseed meal*, *cottonseed meal*, dan *sunflower meal* berturut-turut mengandung asam fitat sebesar 0,39%, 0,70%, 0,84%, dan 0,89% dari bahan kering. Kadar asam fitat pada tanaman bergantung pada varietas, iklim (Hidvegi dan Lasztity, 2002) dan kadar P dalam tanah (Maga, 1982).

Molekul asam fitat mengandung 12 proton dengan sisi terdisosiasi. Enam sisi merupakan asam kuat dengan nilai pKa kira-kira 1,5, tiga sisi dengan nilai pKa 5,7, 6,8, 7,6, dan sisanya tiga sisi adalah asam sangat lemah dengan nilai pKa >10 (Costello, et al. 1976). Struktur molekul tersebut secara konsisten memiliki kapasitas sebagai *chelating agent* dengan kation multivalensi. Di dalam larutan, stabilitas kompleks mineral dapat diukur dengan metode penurunan pH dimana logam akan menggantikan ion hidrogen untuk mengikat grup fosfat pada molekul fitat

(Vohra dan Kratzer, 1965). Dengan menggunakan metode penurunan pH, Cheryan (1980) menyimpulkan bahwa asam fitat siap membentuk kompleks dengan kation multivalensi, dengan Zn^{2+} membentuk kompleks paling stabil yang diikuti oleh Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , dan Fe^{2+} . Potensi asam fitat membentuk kompleks dengan Zn memberikan peluang sebagai alternatif dalam penyajian Zn sebagai suplemen untuk ternak.

Mikroflora dalam rumen ternak ruminansia menghasilkan fitase dalam jumlah besar. Keberadaan asam fitat bagi ternak ruminansia tidak menjadi masalah karena dapat menghidrolisis senyawa tersebut (Park, et al. 1999). Yanke, et al. (1998) mendemonstrasikan adanya aktivitas fitase pada lima spesies bakteri rumen terutama bakteri *Selenomonas ruminantium*. Bagi ternak ruminansia, asam fitat menyediakan *myo-inositol* dan fosfat anorganik pada sapi perah yang diberi ransum dengan konsentrat tinggi (Marounek, et al. 2000). Ternak ruminansia dilaporkan sangat efisien dalam menggunakan P dari asam fitat (Morse, et al. 1992). Kurang dari 1% asam fitat yang dikonsumsi masih terdapat dalam feses sapi (Nelson, et al. 1976). Namun demikian, degradasi asam fitat akan lambat dan hanya sebagian dari P yang dimanfaatkan ketika dalam ransum mengandung Ca dalam jumlah yang tinggi (Morse, et al. 1992).

MATERI DAN METODE

Produksi dan Penentuan Karakteristik Zn-Fitat

Pollard sebanyak 2 kg dicampur dengan asam asetat 1% pada perbandingan pollard dengan larutan asam asetat sebesar 1:3. Rendaman tersebut diaduk secara manual selama 3 jam. Hasil rendaman kemudian dimasukkan ke dalam kantong yang terbuat dari kain dan dimasukkan ke dalam bagian pengering mesin cuci dan disentrifuge. Filtrat yang keluar ditampung dan direaksikan dengan larutan ZnCl_2 pada perbandingan molaritas 1:2. Hasil reaksi tersebut kemudian diambil 5 mL, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, kemudian dipisahkan antara endapan dan supernatannya. Endapan yang terbentuk diukur kadar bahan keringnya dengan cara dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 24 jam. Masing-masing endapan yang terbentuk diukur kadar mineral P, Zn, K, Mg, dan Na. Sebagai pembanding dilakukan hal yang sama dengan ekstrak asam fitat pollard tanpa direaksikan dengan

larutan ZnCl_2 . Pengukuran kadar mineral sampel terlebih dahulu dilakukan preparasi dengan metode *wet ashing* (Restz, *et al.* 1960). Sampel ditimbang dalam Erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambahkan HNO_3 pekat 5 mL dan dibiarkan selama ± 1 jam sampai menjadi bening. Berikutnya sampel dipanaskan selama ± 4 jam di atas *hot plate*. Setelah ± 4 jam lalu sampel didinginkan dan ditambahkan 0.4 mL H_2SO_4 pekat, kemudian dipanaskan kembali selama ± 30 menit. Pada saat perubahan warna, sampel diteteskan 2-3 tetes larutan campuran $\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$ (2:1) dan setelah itu dipanaskan lagi selama ± 15 menit. Terakhir, sampel ditambahkan 2 mL aquades dan secara bersamaan ditambahkan 0.6 mL HCl pekat, setelah itu dipanaskan selama ± 15 menit sampai larut. Sampel dibiarkan menjadi dingin dalam suhu kamar, lalu dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL dalam labu takar. Sampel hasil *wet ashing* ditambahkan 0,05 mL larutan $\text{Cl}_3\text{La} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, lalu disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan AAS pada panjang gelombang sesuai dengan jenis mineral yang akan dibaca. Untuk mengukur P, sampel hasil proses *wet ashing* ditambahkan aquades sampai 3 mL, lalu ditambahkan 2 mL larutan B lalu divorteks dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Larutan B dibuat dari campuran 10 mL larutan A yang dilarutkan dengan 60 mL aquades ditambah dengan 5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, kemudian ditambah lagi dengan aquades sampai 100 mL. Larutan A diperoleh dengan mereaksikan 10 g amonium molibdat yang ditambah dengan 60 mL aquades dan 28 mL H_2SO_4 pekat, lalu ditambah lagi aquades sampai 100 mL. Semua hasil pembacaan dibandingkan dengan kurva standar. Perhitungan asam fitat didasarkan pada asumsi bahwa kandungan P dalam asam fitat sebesar 28,3%.

Uji Degradasi Zn-Fitat dalam Cairan Rumen

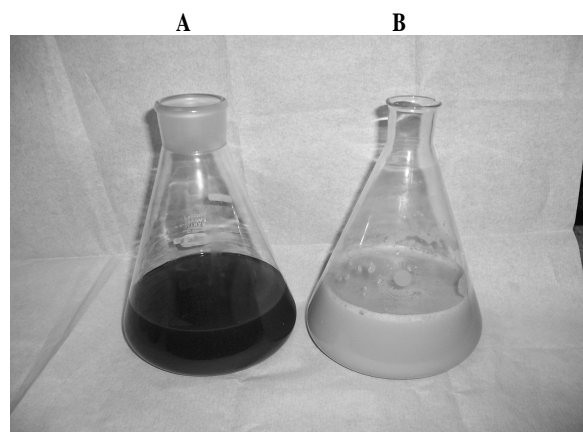
Produk Zn-fitat dicampur dengan onggok (total 76,81 mg/kg Zn) dan ditambahkan dengan urea sebanyak 1%. Campuran tersebut diinkubasikan dalam sistem rumen *in vitro*. Degradasi Zn-fitat diukur dengan melihat kadar P dalam cairan rumen pada jam ke-4, 6, 8, 12, 18, dan 24, kemudian dibandingkan dengan substrat yang sama yang dicampur dengan ekstrak asam fitat pada proporsi yang sama. Percobaan *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Tilley dan Terry (1963) yang telah dimodifikasi.

Sebanyak ± 1 g sampel perlakuan dimasukkan ke dalam tabung fermentor yang ditempatkan dalam *shakerbath* pada suhu $\pm 39^\circ\text{C}$, lalu ditambahkan dengan larutan saliva buatan (larutan McDougall) sebanyak 12 mL dan cairan rumen domba masih segar sebanyak 8 mL sebagai inokulan. Selama proses memasukan cairan rumen yang telah dicampur saliva buatan ke dalam tabung fermentor, dialirkan gas CO_2 untuk memberikan suasana *anaerob*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

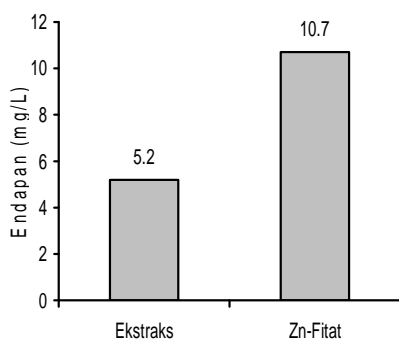
Karakteristik Zn-Fitat

Produk Zn-fitat diperoleh dengan mereaksikan larutan ZnCl_2 yang berwarna bening dengan filtrat yang mengandung asam fitat hasil ekstraksi dari pollard pada rasio 2:1. Hasil reaksi tersebut tampak dengan adanya perubahan warna putih pada larutan dibandingkan dengan hanya ekstrak pollard saja dan bila dibiarkan atau disentrifuse fraksi yang berwarna putih (Zn-fitat) akan mengendap (Gambar 1).

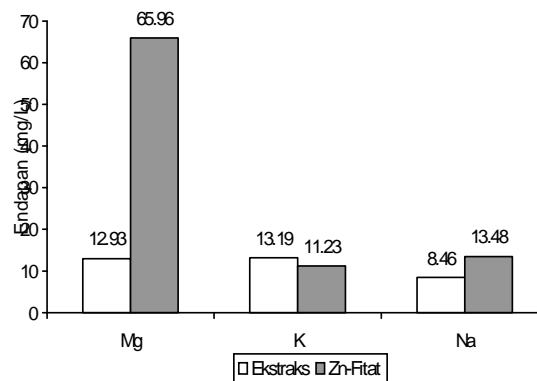


Gambar 1. a) Produk Ekstrak Pollard b) Zn-fitat Hasil Reaksi antara Ekstrak Pollard dan ZnCl_2

Reaksi antara filtrat hasil ekstraksi pollard dan larutan ZnCl_2 menghasilkan endapan dengan karakteristik seperti yang disajikan pada Gambar 2-4. Gambar 2 menunjukkan bahwa reaksi filtrat ekstrak pollard dengan larutan ZnCl_2 menghasilkan endapan 2 kali lebih banyak dibandingkan ekstrak pollard yang tidak mengalami reaksi dengan ZnCl_2 (10,7 vs 5,2 mg/L). Terbentuknya endapan yang lebih banyak pada



Gambar 2. Endapan Terbentuk dari Reaksi Ekstrak Pollard dengan $ZnCl_2$

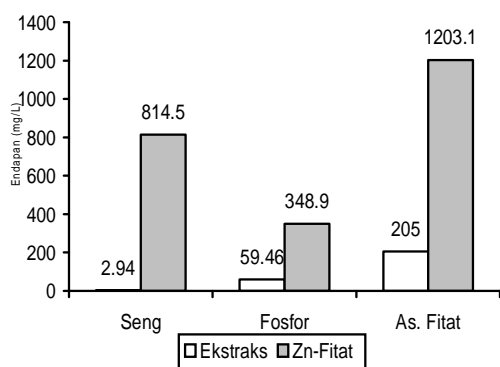


Gambar 4. Kandungan Mg, K, dan Na dalam Endapan

campuran ekstrak pollard dengan $ZnCl_2$ disebabkan terbentuknya kompleks stabil antara asam fitat dan Zn yang ditunjukkan dengan banyaknya asam fitat dan Zn yang turut mengendap.

Endapan Zn-fitat rata-rata mengandung 814,5 mg Zn/L dan 348,9 mg P/L. Kadar P terbentuk setara dengan jumlah asam fitat sebanyak 1203,1 mg/L (Gambar 3) dan menunjukkan kadar asam fitat yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang dikandung oleh ekstrak pollard saja. Akan tetapi, masih banyak Zn yang tidak mengendap karena dari 2726 mg yang direaksikan hanya 814,5 mg yang mengendap atau sebanyak 29,7%.

Filtrat hasil ekstraksi pollard tidak hanya mengandung asam fitat, tetapi juga senyawa-senyawa lain yang ikut terekstraksi. Hadirnya senyawa lain tersebut akan mengganggu proses reaksi antara Zn dengan asam fitat sehingga Zn yang terendapkan



Gambar 3. Kandungan Zn, P, dan Asam Fitat dalam Endapan

sangat sedikit dibandingkan jumlah Zn yang ditambahkan. Kemungkinan lain rendahnya Zn yang mengendap adalah sebagian Zn sudah membentuk kompleks dengan asam fitat, namun tidak semua sisi disosiasinya terikat Zn sehingga memungkinkan untuk tidak membentuk endapan.

Secara alami asam fitat tidak berdiri sendiri, senyawa ini terikat dengan kation lain misalnya dengan K, Mg, Na, Ca, dan protein (Irving, 1980; Prattley dan Stanley, 1982). Ekstraksi pollard saja ternyata hanya menghasilkan endapan, P dan asam fitat yang rendah meskipun sudah membentuk kompleks dengan kation lain. Hal ini berarti kompleks asam fitat dengan kation lain akan membentuk endapan bila gugus aktif asam fitat terikat kation yang memiliki kekuatan lebih kuat dalam mengikatnya. Perbedaan kekuatan pengikatan antara kation dan asam fitat disebabkan berbedanya tipe dari gugus aktif yang dimiliki oleh masing-masing kation (Chan, 1988).

Sebab lainnya adalah pH yang terukur setelah reaksi antara ekstrak pollard dengan Zn mencapai rata-rata 4,08. Nilai ini belum mencapai pH yang optimum untuk pembentukan kompleks stabil. Kompleks stabil antara Zn dan asam fitat dicapai pada pH 6-7 (Davidek, *et al.* 1999). Menurut Cheryan (1980), kompleks mineral-fitat ada dalam bentuk khlelat yang larut ataupun tak larut, bergantung pada konsentrasi asam fitat, mineral, dan pH larutan.

Hadirnya Zn dalam ekstrak pollard ternyata meningkatkan kandungan mineral lain dalam endapan terutama Mg dan Na (Gambar 4). Hal ini terjadi karena Zn terikat pada beberapa gugus aktif asam fitat dimana gugus-gugus aktif yang lain diduga mengikat Mg atau Na. Terikatnya Zn pada sebagian gugus aktif

asam fitat menyebabkan senyawa tersebut mengendap.

Terbentuknya endapan Zn-fitat dapat membuktikan bahwa kompleks asam fitat dan Zn dapat dimanfaatkan untuk tujuan lain. Hal ini akan memberikan peluang bahwa asam fitat dapat dijadikan kendaraan bagi beberapa mineral esensial atau senyawa lainnya seperti Cu, Ca, dan protein yang dapat dimanfaatkan sebagai suplemen bagi ternak. Keberadaan Mg, K, dan Na pada endapan menunjukkan bahwa asam fitat secara alami membentuk kompleks dengan mengikat beberapa mineral. Hidrolisis asam fitat dapat menyumbangkan P dan inositol juga kation lain yang dapat dimanfaatkan oleh ternak.

Degradasi Zn-Fitat pada Cairan Rumen

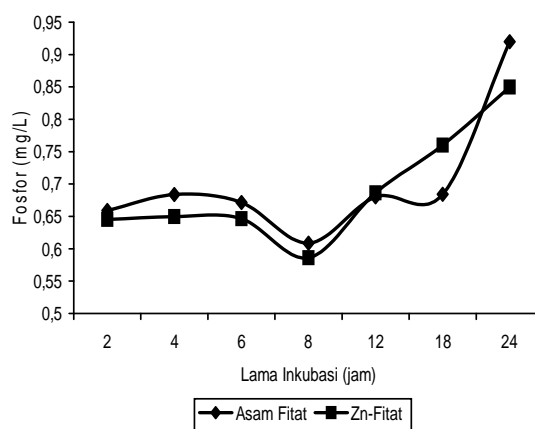
Ternak ruminansia memiliki kemampuan mendegradasi asam fitat/garam fitat yang berasal dari tumbuhan akibat adanya mikroba rumen penghasil enzim fitase. Degradasi asam fitat tersebut akan melepaskan inositol dan ion P bebas. Namun, bila asam fitat bereaksi dengan Zn maka akan mengalami perubahan konfigurasi asam fitat. Beberapa gugus aktif asam fitat mengikat Zn. Perubahan konfigurasi asam fitat diduga menyebabkan enzim fitase membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasi molekul Zn-fitat tersebut. Di samping itu, pH yang mendekati netral pada cairan rumen menyebabkan ikatan Zn-fitat lebih stabil atau kelarutannya rendah sehingga mikroba rumen sulit mendegradasinya. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 5, P yang dilepas pada perlakuan Zn-fitat rata-rata lebih rendah dibandingkan dengan P yang dilepas dari asam fitat dalam ekstrak pollard.

Laju pelepasan P pada perlakuan Zn-fitat menunjukkan lambat sampai jam ke-8, kemudian meningkat terus sampai jam ke-24 dan pada jam ke-18 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan ekstrak pollard, namun pada jam ke-24 menjadi lebih rendah. Hal ini berarti kompleks Zn-fitat awalnya sulit didegradasi dan akan mengalami percepatan degradasi setelah jam ke-8. Lepasnya P, maka Zn yang diikat dalam kompleks Zn-fitat akan dilepaskan juga, karena Zn terikat pada gugus fosfat.

Lambatnya Zn-fitat didegradasi menunjukkan telah terjadi aktivitas *slow release* pada Zn yang terikat asam fitat dan diharapkan dapat dimanfaatkan secara

efektif bagi ternak. Fenomena ini hampir sama dengan yang dilaporkan Morse, *et al.* (1992) bahwa kehadiran Ca yang terikat dalam konfigurasi asam fitat memperlambat degradasi asam fitat oleh mikroba rumen dan mengurangi ketersediaan P bagi ternak ruminansia.

Gambar 5 juga menunjukkan bahwa asam fitat dalam ekstrak pollard memiliki pola laju pelepasan P yang sama dengan Zn-fitat. Asam fitat didegradasi lambat sampai jam ke-8 dan akan cepat meningkat setelah waktu tersebut. Hal ini menunjukkan pula



Gambar 5. Degradasi Zn-fitat dalam cairan rumen

bahwa degradasi asam fitat dalam ekstrak pollard membutuhkan waktu yang lama. Bila suatu pakan yang mengandung asam fitat tinggi memiliki laju degradasi yang cepat (<8 jam), menyebabkan terbatasnya degradasi asam fitat oleh mikroba rumen dan peluang asam fitat pakan lolos menuju pascarumen menjadi lebih besar. Kondisi ini akan berdampak positif apabila asam fitat berinteraksi dengan kation atau senyawa yang bersifat racun. Sebaliknya, kondisi ketika kation atau senyawa yang bersifat racun rendah akan berdampak negatif karena asam fitat sebagai agen pengkhelet dapat mengikat beberapa mineral atau senyawa yang dibutuhkan ternak ruminansia. Enzim fitase banyak dihasilkan mikroba rumen, namun enzim ini di pascarumen sedikit (Park, *et al.* 1999) dan tidak cukup memecah asam fitat menjadi inositol dan fosfat bebas. Fosfor yang terikat asam fitat dalam *oilseed meal* yang dilindungi dengan formaldehid dari degradasi mikroba rumen menyebabkan tidak dimanfaatkan oleh induk semang

(Park, *et al.* 1999).

KESIMPULAN

Pembentukan kompleks Zn-fitat dari ekstrak polard dengan ZnCl_2 pada perbandingan molaritas 2:1 menghasilkan endapan sebanyak 10,7 mg/L dengan kadar Zn yang terikat sebesar 29,87% serta turut mengendapkan Mg dan Na. Kompleks Zn-fitat didegradasi lambat dalam cairan rumen dan percepatan degradasi dimulai pada jam ke-8.

DAFTAR PUSTAKA

- Barker, J.C and J.P. Zublena. 1999. Livestock Manure Nutrient Assessment. In Phytase in Animal Nutrition and Waste Management. A BASF Reference Manual. 2nd Revised Edition.
- Chan, H.C. 1988. Phytate and cation binding activity. M.S. Thesis, Texas Tech University, Lubbock, TX.
- Cheryan, M. 1980. Phytic acid interactions in food system. CRC Critical reviews in Food Science and Nutrition 13, 297-335.
- Church, D.C. 1984. Livestock Feeds and Feeding. Second ed. O&B Books Inc. Corvallis, Oregon.
- Cosgrove, D.J. 1980. Inositol Phosphate: Their Chemistry, Biochemistry and Physiology. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.
- Costello, A.J.R., T. Glonek, and T.C. Meyers. 1976. ^{31}P -nuclear magnetic resonance-pH titration of myo-inositol hexaphosphate. Carbohydrate Resource 46:159-171.
- Davidek, J., J. Velisek, and I. Pokorny. 1999. Chemical Changes During Food Processing. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, The Netherlands.
- Georgievskii, V.I, B.N. Amenkov, and V.T. Samokhin. 1982. Mineral Nutrition of Animal. Butterwoths, London.
- Hatfield, P.G, G.D. Snowden, W.A. Head, H.A. Glimp, R.E. Stobart, and T. Besser. 1995. Production by ewes rearing single or twin lambs: Effects of dietary crude protein percentage and supplemental zinc methionin. J. Anim. Sci. 73:1227-1238.
- Hernaman, I., T. Toharmat, dan S. Tarigan. 2003. Mineral plasma dan respons antibodi pasca cekaman transportasi pada domba dengan ransum yang disuplementasi seng dan minyak ikan. Bionatura Vol. 5 No. 3 216-226.
- Hidvegi, M. and R. Lasztity. 2002. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with protein. Periodica polytechnica Ser. Chem. Eng. 46 (1-2): 59-64.
- Irving, G.C.J. 1980. Phytase, in: D.J. Cosgrove (Ed.) : Inositol Phosphates. Elsevier, Amsterdam.
- Karr, K.J., K.A. Dawson, and G.E. Mitchell Jr. 1991. Inhibitory effects of zinc on the growth and proteolytic activity of selected strains of ruminal bacteria. p 27. Beef Cattle Res. Rep. No. 337, Univ. of Kentucky, Lexington.
- Larvor, P. 1983. The Pools as Cellular Nutrients : Mineral. In: Dynamic Biochemistry of Animal Production. Ed. P.M. Riis. Elsevier. Amsterdam.
- Maga, J.A. 1982. Phytate : Its Chemistry, Occurance, Food Interactions, Nutritional Significance, and Method of Analysis. J. Agric. and Food Chem. 30 (1) : 1-8.
- Marounek, M, D. Duskova, V. Skrivanoka, and O.G. Savka. 2000. Isotachophoretic determination of phytate phosphorous in feaces of cattle, pigs and hens. Reprod. Ntr. Dev. 40:223.
- Morse, D., H.H. Head, and C.J. Wilcox. 1992. Dissappearance of phosphorus in phytate from concentrates in vitro and from rations fed to lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 75:1979-1986.
- Nelson, T.S., L.B. Daniels, J.R. Hall, and L.G. Shields. 1976. Hydrolysis of natural phytate phosphorus in the digestive tract of calves. J. Anim. Sci. 42:1509-1512.
- Park, W.Y., T. Matsui, C. Konishi, S.W. Kim, F. Yano, and H. Yano. 1999. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. Br. J. Nutr. 81(6): 467-71.
- Prattley, C.A., and D.W. Stanley. 1982. Protein-phytate interaction in soybean : I. Localization of phytate in protein bodies and globoids. J Food Biochem. 6:243-253.
- Putra, S. 1999. Peningkatan Performans Sapi Bali Melalui Perbaikan Mutu Pakan dan Suplementasi Seng [disertasi]. Bogor : Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Ravindran, V., W.L. Bryden, and E.T. Kornegay. 1995. Phytases: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry and Avian Biology Reviews* 6, 125-143 (5.1.9).

- Restz, L.L., W.H. Smith, and M.P. Plumlee. 1960. A simple wet oxidation procedure for biological material. Animal Science Department, Purdue University, West La Fayette. *Animal Chemistry* Vol 32:1728.
- Rojas, L.X., L.R. McDowell, R.J. Cousins, F.G. Martin, N.S. Wilkinson, A.B. Johnson, and J.B. Velasquez. 1995. Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. *J. Anim. Sci.* 73:1202-1207.
- Sumiati. 2005. Rasio Molar Asam Fitat : Zn untuk Menentukan Suplementasi Zn dan Enzym Phytase dalam Ransum Berkadar Asam Fitat Tinggi [disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the in-vitro digestion of forage crops. *J. B. Grassl. Soc.* 18; 104-111.
- Turk, M. 1999. Cereal-and Microbial Phytase. Phytase Degradation, Mineral Binding and Absorption. Doctoral Thesis. Departement of Food Science, Chalmers University of Technology. Chalmers Reproservice, Gotenborg, Sweden.
- Vohra, P. and F.H. Kratzer. 1965. Influence of various chelating agents on the availability of zinc. *J. Nutr.* 82: 249-256.
- Yanke, L.J., H.D. Bae, L.B. Selinger, and K.J. Cheng. 1998. Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiology* 144:1565-1573.